

# ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ENDOFIT ASAL AKAR TANAMAN CIPLUKAN (*Physalis angulata* L.)

Doddy Sulistiawan Wibowo<sup>1)</sup>, Ika Afifah Nugraheni<sup>2)</sup> dan Heni Setianah<sup>3)</sup>

<sup>1,2</sup> Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta, Yogyakarta, Indonesia

Email: doddysw21@gmail.com

---

## Abstrak

**Tujuan studi:** tujuan dalam penelitian ini yaitu mengkarakterisasi secara morfologi dan fisiologi bakteri endofit dari tanaman ciplukan (*Physalis angulata* L.).

**Metodologi:** penelitian ini menggunakan metode eksperimental meliputi, persiapan sampel, isolasi, pemurnian, karakterisasi morfologi dan karakterisasi fisiologi (uji biokimia).

**Hasil:** Hasil dalam penelitian ini diperoleh sebanyak enam isolat asal akar tanaman ciplukan. Karakterisasi isolat asal akar tanaman ciplukan yaitu enam isolat telah diperoleh prediksi genus bakteri diantaranya *Corynebacterium* sp, *Acetobacterium* sp, *Serratia* sp, *Azotobacter* sp, *Phyllobacterium* sp dan *Azomonas* sp.

**Manfaat:** Hasil isolat bakteri endofit dari tanaman ciplukan menunjukkan adanya keberagaman jenis karakteristik morfologi dan fisiologi. Keanekaragaman tersebut dapat menambah kultur koleksi isolat bakteri endofit pada tanaman herbal asli Indonesia yaitu tanaman ciplukan.

## Abstract

**Purpose of studi:** Thus, the presence of endophytic bacteria in ciplukan plants need to be explored to determine their morphological and physiological characteristics.

**Methodology:** The purposes of this study uses experimental methods, including sample preparation, isolation, purification morphological characterization and physiological characterization (biochemical test).

**Results:** This study shows as many as six isolates from the ciplukan plant's root. The isolates derived from the roots of the ciplukan plant, namely six isolates, obtain bacterial genus prediction which are *Corynebacterium* sp, *Acetobacterium* sp, *Serratia* sp, *Azotobacter* sp, *Phyllobacterium* sp and *Azomonas* sp.

**Applications:** The result of endophytic bacterial isolates from the ciplukan plant shows various types of morphological and physiological characteristics. The diversity can add to the culture of endophytic bacterial isolate collections in native Indonesian herbal plants, namely ciplukan plant.

---

**Katakunci:** Isolasi, Bakteri endofit, Tanaman Ciplukan, Morfologi dan Fisiologi.

## 1. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang memiliki tingkat keanekaragaman hayati yang tinggi. Salah satu keanekaragaman hayati yang ada di Indonesia yaitu berbagai jenis tanaman dan sumber daya lain seperti budaya dan bangsa (Kartikawati, 2017). Keanekaragaman tanaman hayati yang ada di Indonesia antara lain tanaman herbal yang melimpah. Masyarakat Indonesia masih memanfaatkan tanaman herbal sebagai bahan khasiat penyembuhan penyakit. Tanaman tidak hanya dimanfaatkan sebagai bahan herbal untuk keperluan ekonomi semata, melainkan juga dimanfaatkan sebagai bahan herbal untuk menyembuhkan penyakit (Rohmatika, 2016). Salah satu tanaman herbal yang hidup di wilayah Indonesia yaitu tanaman ciplukan (*Physalis angulata* L.).

Tanaman ciplukan merupakan tanaman dari famili *Solanaceae* yang mempunyai sifat morfologi khas (Hadiyanti *et al.*, 2017). Tanaman ciplukan tumbuh secara alami di semak-semak, dekat pemukiman hingga pinggiran hutan. Tanaman ini mampu hidup hingga ketinggian 1.000 mdpl (Nur *et al.*, 2016). Habitat tanaman ciplukan tersebut menjadi faktor pendukung untuk kesuburan dan kehidupan mikroflora yang berada di dalam tanaman.

Tanaman ciplukan diketahui mempunyai manfaat sebagai obat tradisional. Nur *et al.* (2016) menyatakan bahwa bagian daun tanaman ciplukan dapat dimanfaatkan sebagai obat cacing, obat nyeri perut, penguat jantung dan kencing nanah. Buah tanaman ciplukan dapat dikonsumsi untuk mengobati epilepsi, sulit buang air kecil dan penyakit kuning. Seluruh bagian tanaman ciplukan banyak dimanfaatkan untuk mengobati beberapa penyakit, seperti antikanker, antibakteri, antidiabetes, pengobatan malaria, anemia dan mengurangi demam (Salgado & Arana, 2013).

Pemanfaatan (biorespreksi) tanaman sebagai obat herbal dapat mengancam kehidupan spesies tanaman tersebut. Pengambilan bahan baku secara berlebihan dapat mengurangi keberadaan spesies tanaman di habitatnya. Salah satu upaya konservasi tanaman herbal yang bisa dilakukan yaitu dengan memanen senyawa bioaktif dari bakteri endofit dapat dimanfaatkan untuk berbagai keperluan manusia, sedangkan di sisi lain kelestarian tanaman herbal dapat terjaga.

Penelitian saat ini beberapa sudah mengeksplorasi keberadaan bakteri endofit pada tanaman herbal terutama di Indonesia. Pulungan & Tumangger (2018) menyatakan bahwa salah satu manfaat lainnya yaitu bakteri endofit. Bakteri endofit hidup di dalam jaringan tanaman seperti bagian akar, batang, daun dan buah. Bakteri endofit memiliki senyawa

bioaktif yang sama dengan tanaman inangnya. Susilowati *et al.* (2018) menjelaskan bahwa adanya kesamaan senyawa bioaktif tersebut akibat terjadi transfer genetik dari tanaman inangnya ke dalam bakteri endofit. Yulianti (2012) menyatakan bahwa senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh bakteri endofit dapat memberikan manfaat bagi tanaman inang yaitu dapat membantu peningkatan pertumbuhan tanaman dan memberikan proteksi terhadap serangan mikroba patogen. Dengan demikian, Destriani *et al.* (2014) menyatakan bahwa adanya bentuk simbiosis mutualisme diantara keduanya yaitu senyawa bioaktif yang dimiliki bakteri endofit dapat memberikan keuntungan bagi tanaman inangnya. Bakteri endofit juga mendapatkan nutrisi dari hasil metabolisme tanaman.

Pratiwi (2015) menyatakan bahwa manfaat yang dimiliki bakteri endofit berpeluang sebagai pengganti sumber daya bahan baku tanaman herbal. Pemanfaatan bakteri endofit dapat mereduksi kerusakan alam yang disebabkan penebangan tanaman herbal yang berangsur terus menerus, maka dapat dikatakan produksi bahan baku herbal dari kultur bakteri endofit merupakan peluang yang besar. Bakteri endofit dapat diambil dengan cara diisolasi dari jaringan akar, batang, daun dan buah.

Penelitian mengenai isolasi dan karakterisasi bakteri endofit dari tanaman herbal telah banyak dilakukan. Penelitian yang dilakukan oleh Pujiyanto *et al.* (2015) berhasil mendapatkan bakteri endofit dari tanaman pare (*Momordica charantia*) berjumlah 5 isolat yang termasuk ke dalam bakteri Gram negatif berbentuk *coccus* (bulat). Penelitian yang dilakukan oleh Jumrah (2016) berhasil mendapatkan 16 isolat bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman lengkuas merah (*Alpinia purpurata*). Isolat tersebut memiliki kemiripan dengan bakteri *Bacillus amyloliquefaciens*, *Burkholderia gladioli* dan *Burkholderia cenocepacia*. Irdawati *et al.* (2017) dalam penelitiannya berhasil mendapatkan 11 isolat bakteri endofit yang di isolasi dari daun salam (*Syzygium polyanthum*). Sepuluh isolat tersebut diantaranya termasuk Gram positif dengan bentuk sel vegetatif *bacil* (batang) dan *coccus* serta satu isolat lain merupakan bakteri Gram negatif dengan bentuk *bacil*. Penelitian yang dilakukan oleh Wiratno *et al.* (2019) mendapatkan 16 isolat bakteri endofit dari tanaman lada (*Piper nigrum*), 7 isolat termasuk Gram positif dan 9 isolat termasuk Gram negatif berbentuk *coccus*.

Informasi mengenai isolasi dan karakterisasi bakteri endofit dari akar tanaman ciplukan belum pernah dilakukan oleh peneliti sebelumnya. Penelitian mengenai isolasi dan karakterisasi bakteri endofit dari akar tanaman ciplukan penting dilakukan. Tujuan penelitian tersebut dilakukan harapannya untuk memperoleh berbagai jenis bakteri endofit. Keanekaragaman tersebut dapat menambah kultur koleksi isolat bakteri endofit pada tanaman herbal asli Indonesia yaitu tanaman ciplukan.

## 2. METODOLOGI

Alat yang digunakan untuk pengambilan sampel meliputi plastik putih berbahan *polyvinyl chloride*, kertas koran, pinset dan kertas label. Alat yang digunakan untuk isolasi, pemurnian dan karakterisasi morfologi dan fisiologi meliputi, cawan petri, tisu, auktoklaf, erlenmeyer, gelas ukur, mikropipet, tip, gelas beker, drygelskispatel, gelas objek, pipet, cover glass, mikroskop, jarum ose (bulat dan lurus), spatula, aluminium foil, tabung reaksi, korek api, bunsen, hot plate, kompor gas, timbangan, Laminary Air Flow (LAF), oven, kain kasa, tisu dan inkubator.

Bahan yang digunakan untuk persiapan sampel meliputi, alkohol 70%, natrium hipoklorit 5,25% dan akuades steril. Bahan yang digunakan untuk isolasi, pemurnian dan karakterisasi morfologi (makroskopik) meliputi, media pertumbuhan bakteri *Tryptic Soya Agar* (TSA) dan nistatin 0,02%. Bahan yang digunakan untuk karakterisasi morfologi (mikroskopik) meliputi pengecatan Gram (kristal violet, lugol iodine, alkohol aseton dan safranin) dan pengecatan sederhana (safranin). Bahan yang digunakan untuk karakterisasi fisiologi meliputi, media *Trypton Soya Broth* (TSB), reagen *kovac's*, media MR-VP broth, reagen *metil red* dan reagen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%.

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental yaitu meliputi tahapan observasi, persiapan sampel, isolasi, pemurnian, karakterisasi morfologi dan fisiologi (biokimia). Populasi pada penelitian ini yaitu tanaman ciplukan yang tumbuh di lahan pertanian milik warga. Sampel pada penelitian ini yaitu 3 tanaman ciplukan yang diambil dari lahan pertanian milik warga desa Barak Gedhe, Kel. Margoluwih, Kec. Seyegan, Kab. Sleman, Prov. Daerah Istimewa Yogyakarta.

### 2.1 PROSEDUR KERJA

#### 2.1.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tanaman ciplukan yang diambil dari lahan pertanian milik warga desa Barak Gedhe, Kel. Margoluwih, Kec. Seyegan, Kab. Sleman, Prov. Daerah Istimewa Yogyakarta. Sampel yang diambil berjumlah 3 tanaman ciplukan. Sampel tanaman ciplukan dimasukkan ke dalam plastik berwarna putih berbahan *polyvinyl chloride* dan dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi dan Imunologi Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta. Teknik pengambilan sampel dilakukan secara acak.

#### 2.1.2 Sterilisasi Sampel

Sampel tanaman ciplukan dibersihkan dengan air mengalir lalu dikering anginkan di atas kertas koran. Sampel dibagi empat bagian yaitu bagian akar, batang, daun dan buah lalu dipotong-potong dengan ukuran 2-3cm. Sampel yang sudah dipotong-potong lalu dimasukkan ke dalam plastik dan diberi label. Sterilisasi sampel dilakukan dengan cara di rendam dalam alkohol 70% selama 1 menit, larutan natrium hipoklorit 5,25% selama 5 menit, alkohol 70% selama 30 detik dan di cuci dengan akuades sebanyak dua kali (Aji & Utami, 2017 dengan modifikasi).

### 2.1.3 Isolasi Bakteri Endofit

Sampel yang sudah disterilisasi dipotong-potong dan dicacah serta dipencet hingga cairan dari dalam jaringan sampel asal tanaman ciplukan bisa keluar. Cairan sampel di dalam jaringan sampel tersebut selanjutnya diratakan dalam media TSA yang mengandung nistatin 0,02% menggunakan *drygelskispatel*. Media di inkubasi pada suhu 37°C dalam waktu 24-72 jam dan diamati setiap hari sampai ada pertumbuhan koloni (Destriani *et al.*, 2014).

### 2.1.4 Pemurnian Isolat

Koloni bakteri yang tumbuh di murnikan pada media TSA yang mengandung nistatin 0,02%. Pemurnian dilakukan dengan cara di *streak plate (quadrant)* pada media TSA lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-72 jam. Pertumbuhan koloni bakteri diamati setiap hari hingga benar-benar terlihat koloni bakteri terpisah yang menandakan koloni bakteri sudah murni (Edhar *et al.*, 2017 dengan modifikasi). Pemilihan koloni bakteri yang dimurnikan berdasarkan perbedaan bentuk morfologi koloni, baik dari segi warna, elevasi, tekstur permukaan, garis-garis radial, lingkaran konsentris maupun titik eksudat sehingga diperoleh isolat murni (Edhar *et al.*, 2017).

### 2.1.5 Karakterisasi Isolat

#### a. Karakterisasi Morfologi Makroskopik

Koloni bakteri diinokulasikan dengan cara digores (*streak plate*) di atas permukaan media TSA miring dan cawan petri. Isolat bakteri lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-72 jam. Pengamatan makroskopik pada media TSA dalam cawan petri meliputi bentuk koloni, pigmentasi, elevasi, permukaan koloni dan tepi koloni (Hajar, 2012).

#### b. Karakterisasi Morfologi Mikroskopik

##### • Pengecatan Sederhana

Gelas objek dibersihkan dengan alkohol 70% dan disapukan dengan tisu lalu difiksasi di atas lampu spiritus. Pengecatan sederhana dapat dilakukan dengan cara koloni bakteri diambil sebanyak satu ose. Koloni bakteri diletakkan pada gelas objek yang telah ditetaskan akuades sambil diratakan. Gelas objek difiksasi dengan cara dilalui di atas api bunsen. Pewarna safranin ditetaskan pada gelas objek dan didiamkan selama 30 detik. Gelas objek selanjutnya di bersihkan dengan air mengalir dan dikering anginkan. Minyak imersi ditetaskan pada gelas objek dan ditutup dengan *cover glass*. Bentuk sel bakteri endofit dapat diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000x. Bentuk koloni sel bakteri beranekaragam diantaranya *coccus*, *diplococcus*, *streptococcus*, *staphylococcus*, *tetrads*, *bacil* dan *helical* (Bensen, 2001).

##### • Pengecatan Gram

Gelas objek dibersihkan dengan alkohol 70% dan disapukan dengan tisu lalu difiksasi di atas lampu spiritus. Koloni bakteri diambil sebanyak satu ose dan diletakkan pada gelas objek yang telah ditetaskan akuades sambil diratakan. Gelas objek difiksasi dengan cara dilalui di atas api bunsen. Gelas objek diberi pengecatan pertama dengan kristal violet (Gram A) selama 2 menit. Gelas objek di cuci dengan air mengalir lalu dikering anginkan. Larutan lugol iodine (Gram B) ditetaskan pada gelas objek selama 1 menit. Larutan tersebut dibuang dan di cuci dengan air mengalir dan di kering anginkan. Selanjutnya, alkohol aseton (Gram C) ditetaskan pada gelas objek dan diamkan selama 1 menit. Alkohol aseton dibuang lalu gelas objek di cuci pada air mengalir dan di kering anginkan. Larutan safranin (Gram D) ditetaskan pada gelas objek dan diamkan selama 2 menit. Cat pewarnaan kemudian dibuang dan dibersihkan dengan air mengalir lalu di kering anginkan dan diamati morfologi selnya. Gelas objek diberi tetesan minyak imersi lalu ditutup dengan *cover glass* dan diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000x. Bakteri yang dikelompokkan sebagai Gram positif apabila selnya berwarna keunguan dan Gram negatif apabila selnya berwarna merah (Dewi, 2013).

#### c. Karakterisasi Fisiologi

##### • Uji Motilitas

Pengujian dapat dilakukan dengan cara sebanyak satu ose isolat diambil dan stok kultur lalu diinokulasikan dengan cara ditusukkan pada media tegak lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-72 jam. Hasil *motil* apabila terdapat rambatan-rambatan di sekitar bekas tusukkan jarum ose pada medium dan *non motil* bila tidak terdapat rambatan-rambatan di sekitar bekas tusukkan jarum ose pada media (Sardiani *et al.*, 2015 dengan modifikasi).

##### • Uji Kebutuhan Oksigen

Pengujian ini dilakukan dengan cara sebanyak satu ose isolat bakteri diambil dari stok kultur dan diinokulasikan pada media TSB dalam tabung reaksi lalu diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24-72 jam. Pengujian kebutuhan oksigen

dapat diamati dari bentuk sebaran pertumbuhan bakteri pada media. Bentuk kebutuhan oksigen bakteri diantaranya fakultatif anaerob, anaerob obligat, aerob obligat, mikroaerofilik dan aerotoleran (Jeffrey & Pommerville, 2010).

- **Uji Katalase**

Uji katalase dapat dilakukan dengan cara reagen hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) 3% ditetaskan pada gelas objek. Isolat bakteri diambil sebanyak satu ose dan di ulaskan pada gelas objek yang telah ditetaskan reagen  $H_2O_2$ . Hasil positif apabila terbentuk gelembung dan hasil negatif apabila tidak terbentuk gelembung (Sardiani *et al.*, 2015).

- **Uji Indol**

Uji indol dapat dilakukan dengan cara koloni bakteri diambil sebanyak satu ose lalu diinokulasikan pada media TSB lalu di inkubasi dengan suhu  $37^{\circ}C$  selama 24-72 jam dan tambahkan reagen *Kovacs* ke dalam media TSB (Hasanah *et al.*, 2012). Hasil pengujian positif ditandai dengan adanya lapisan cincin merah pada bagian atas media (Ulfa *et al.*, 2016). Hasil negatif indol ditandai dengan lapisan berwarna kuning di atas media.

- **Uji Methyl Red (MR)**

Media yang digunakan dalam pengujian ini adalah *MR-VP broth*. Pengujian ini dapat dilakukan dengan cara diambil satu koloni terpisah dengan menggunakan jarum ose lalu diinokulasikan ke dalam media MR dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu dengan suhu  $37^{\circ}C$ . Pengujian selanjutnya ditambahkan 3-4 tetes indikator *methyl red*. Hasil pengujian positif ditandai dengan perubahan warna medium menjadi merah (Rahayu & Gumilar, 2017).

**d. Analisis Data**

Data yang didapatkan dalam penelitian ini dianalisis dengan *cara dicocokkan dengan data acuan dari Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Ninth Edition* (Ludwigh *et al.*, 2010) dan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Volume Four* (John., 1994)

### 3. HASIL DAN DISKUSI

#### 3.1 Isolasi Bakteri Endofit

Tanaman ciplukan yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari lahan pertanian yang berada di jalan Barak Gedhe, Desa Margoluwih, Kecamatan Seyegan, Kabupaten Sleman, Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta. Tanaman ciplukan diambil secara acak sebanyak tiga tanaman yang berbeda. Hal ini bertujuan untuk mendapatkan bakteri endofit yang beranekaragam. Hasil jumlah isolat bakteri endofit pada tanaman ciplukan dapat disajikan pada (Tabel 1).

Tabel 1. Jumlah isolat bakteri endofit pada akar tanaman ciplukan

| Sampel Tanaman Ciplukan | Bagian Tanaman |
|-------------------------|----------------|
|                         | Akar           |
| Sampel 1                | 2              |
| Sampel 2                | 1              |
| Sampel 3                | 3              |
| <b>Total Isolat</b>     | 6              |

Hasil pada tabel 1, jumlah total isolat bakteri endofit asal akar tanaman ciplukan yang didapatkan sebanyak 6 isolat. Penapisan isolat bakteri endofit asal akar tanaman ciplukan berdasarkan pada kesamaan dari segi karakteristik morfologinya yaitu bentuk koloni, pigmentasi, ukuran, tepian, elevasi, optik, bentuk dan gram sel (Hajar, 2012).

Ketiga sampel tanaman ciplukan memberikan jumlah bakteri endofit yang beragam. Jumlah hasil isolat yang diperoleh dipengaruhi oleh berbagai faktor. Salah satunya yaitu lokasi pengambilan tiap tanaman ciplukan berbeda. Tanaman 1 dan 2 di ambil di dekat pertanian kacang kedelai dan tanaman 3 diambil didekat saluran irigasi sekitar area pertanian sawah. Kondisi lingkungan yang berbeda akan mempengaruhi jumlah isolat bakteri endofit yang didapatkan.

Jumlah hasil isolat asal tanaman ciplukan tiga lebih banyak daripada isolat asal tanaman ciplukan satu dan dua disebabkan karena kondisi tanaman tiga memiliki struktur tanah yang baik dan gembur. Kondisi tanaman ciplukan tiga juga memiliki buah dan cabang daun yang melimpah serta ukuran tanaman yang lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman ciplukan satu dan dua. Tanaman ciplukan tiga berada di tanah yang berdekatan pada saluran irigasi. Tanaman ciplukan satu dan dua berada di kondisi tanah yang kering dan dikelilingi tanaman kedelai. Faktor tanah dan kondisi tanaman tersebut yang menjadi salah satu faktor banyaknya jumlah isolat bakteri endofit di dalam jaringan. Hal ini, tanaman ciplukan tiga memiliki keunggulan dalam segi diameter ukuran lebar, panjang dan jumlah daun serta buah yang melimpah dibandingkan tanaman ciplukan satu dan dua. Menurut Wilson *et al.* (2017) menyatakan bahwa perbedaan jumlah dan karakter dari isolat dipengaruhi oleh tanaman inangnya. Faktor-faktor fisiologis yang mempengaruhi



pertumbuhan tanaman akan mempengaruhi komunitas bakteri endofit seperti struktur tanah, umur tanaman, kondisi lingkungan dan waktu pengambilan sampel.

### 3.2 Karakteristik Morfologi Bakteri Endofit

Bakteri endofit dapat di lihat dari bentuk morfologi secara makroskopik maupun mikroskopik. Karakteristik morfologi bakteri endofit dalam penelitian ini memfokuskan pada isolat asal akar tanaman ciplukan. Pemilihan bagian akar dalam penelitian ini dikarenakan bakteri endofit masuk ke dalam jaringan tanaman secara bertahap yaitu diawali pada bagian akar lalu menyebar ke jaringan tanaman lainnya seperti batang, daun dan buah.

Hasil karakterisasi morfologi bakteri endofit dari akar tanaman ciplukan diperoleh karakteristik koloni yang beragam (Tabel 2). Hasil optik koloni pada isolat akar menunjukkan seluruh isolat koloni berbentuk *opaque*. Menurut Yusmaniar *et al.* (2017) menjelaskan bahwa optik koloni yaitu jumlah cahaya yang melewati koloni (tembus cahaya atau tidak). Tekstur koloni pada isolat akar seluruhnya memiliki tekstur koloni halus. Menurut Rohmah (2017), tekstur koloni yaitu sifat keadaan permukaan koloni.

Tabel 2. Hasil morfologi makroskopik isolat akar tanaman ciplukan

| Kode isolat | Bentuk          | Batasannya Tepi | Elevasi       | Ukuran         | Pigmentasi | Optik         | Tekstur | Penampakan koloni | Bentuk media miring |
|-------------|-----------------|-----------------|---------------|----------------|------------|---------------|---------|-------------------|---------------------|
| AR1 (1)     | <i>Circular</i> | <i>Entire</i>   | <i>Convex</i> | <i>Small</i>   | Krem       | <i>Opaque</i> | Halus   | Tidak mengkilap   | <i>Effuse</i>       |
| AR1 (2)     | <i>Circular</i> | <i>Entire</i>   | <i>Convex</i> | <i>Large</i>   | Orange     | <i>Opaque</i> | Halus   | Mengkilap         | <i>Effuse</i>       |
| AR2 (1)     | <i>Circular</i> | <i>Entire</i>   | <i>Convex</i> | <i>Moderat</i> | Krem       | <i>Opaque</i> | Halus   | Tidak mengkilap   | <i>Effuse</i>       |
| AR3 (2)     | <i>Circular</i> | <i>Entire</i>   | <i>Convex</i> | <i>Moderat</i> | Kuning     | <i>Opaque</i> | Halus   | Tidak mengkilap   | <i>Effuse</i>       |
| AR3 (3)     | <i>Circular</i> | <i>Entire</i>   | <i>Flat</i>   | <i>Large</i>   | Krem       | <i>Opaque</i> | Halus   | Tidak mengkilap   | <i>Effuse</i>       |
| AR3 (4)     | <i>Circular</i> | <i>Entire</i>   | <i>Flat</i>   | <i>Small</i>   | Putih      | <i>Opaque</i> | Halus   | Tidak mengkilap   | <i>Effuse</i>       |

Berdasarkan tabel 2, semua isolat mempunyai bentuk koloni *circular* dengan batasan tepi *entire*. Menurut Rohmah (2017), batasan tepi yaitu bentuk permukaan pada pinggiran koloni. Koloni mempunyai bentuk batasan tepi *entire* yang berbentuk batasan tepi koloni rata. Hasil elevasi koloni pada isolat akar mempunyai bentuk yang beragam. Elevasi koloni berkisar antara bentuk *convex* dan *flat*.

Hasil penampakan koloni pada isolat akar dan batang tanaman ciplukan memiliki bentuk dominan tidak mengkilap. Isolat AR1 (2) menunjukkan koloni mengkilap. Isolat lainnya menunjukkan penampakan koloni yang tidak mengkilap. Menurut Rohmah (2017), penampakan koloni yaitu derajat pantulan cahaya pada permukaan koloni. Penampakan koloni dapat diamati dengan cara memegang cawan petri lalu sambil digoyangkan ke arah atas dan bawah pada sisi kanan dan kiri petri secara silang berganti. Koloni akan terlihat nampak mengkilap atau tidak mengkilap di bawah pantulan cahaya.

Pigmentasi warna pada isolat akar dan batang memiliki warna yang beragam. Satu isolat memiliki koloni berwarna kuning, yaitu isolat AR1 (1). Satu isolat memiliki koloni berwarna orange, yaitu isolat AR3 (3). Satu isolat memiliki koloni berwarna putih, yaitu AR3 (4). Sementara sisa isolat lainnya memiliki koloni berwarna krem. Menurut Yusmaniar *et al.* (2017) menjelaskan bahwa pigmentasi yaitu zat warna yang terdapat pada sel koloni bakteri. Pigmentasi dapat diamati secara kasat mata langsung yaitu dilihat pada warna koloninya. Menurut Putri *et al.* (2017) bakteri kromogenik sering memproduksi pigmen intraseluler, beberapa jenis lain memproduksi pigmen ekstraseluler yang dapat terlarut dalam media. Warna pigmen yang dihasilkan dapat berupa kuning, orange, merah, ungu dan lain sebagainya.

### 3.3 Karakteristik morfologi secara mikroskopik

Hasil karakteristik morfologi secara mikroskopik bakteri endofit dari tanaman ciplukan diperoleh bentuk yang beragam (Tabel 3). Berdasarkan hasil pengecatan sederhana, hampir semua isolat akar memberikan bentuk sel bulat (*coccus*). Satu isolat memberikan hasil pengecatan sederhana berbentuk batang (*bacil*), yaitu AR1 (1). Hasil pengecatan Gram pada seluruh isolat memberikan hasil bentuk yang beragam baik Gram positif maupun Gram negatif. Dua isolat

memberikan hasil pengecatan Gram positif, yaitu AR1 (1) dan AR2 (1). Isolat lainnya menunjukkan hasil berupa Gram negatif.

Tabel 3. Hasil pengecatan sederhana dan Gram sel isolat akar ciplukan

| Kode isolat | Bentuk sel    | Bentuk Gram  |
|-------------|---------------|--------------|
| AR1 (1)     | <i>Bacil</i>  | Gram positif |
| AR1 (2)     | <i>Coccus</i> | Gram negatif |
| AR2 (1)     | <i>Coccus</i> | Gram positif |
| AR3 (2)     | <i>Coccus</i> | Gram negatif |
| AR3 (3)     | <i>Coccus</i> | Gram negatif |
| AR3 (4)     | <i>Coccus</i> | Gram negatif |

Hasil perbedaan Gram tersebut dipengaruhi oleh komponen suatu sel. Hal ini, (Rohmah, 2017) menjelaskan bahwa bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang tersusun dari lapisan peptidoglikan yang tebal. Dinding sel bakteri Gram positif tidak larut dalam pelarut aseton alkohol, sehingga memberikan visualisasi berwarna ungu atau kebiruan. Warna tersebut merupakan hasil pewarna kristal violet pada waktu pengecatan Gram yang masih tetap dipertahankan sel. Gram negatif memiliki dinding sel dengan kandungan lipid yang tinggi. Dinding sel bakteri Gram negatif akan larut dalam pelarut aseton alkohol, sehingga memberikan visualisasi sel berwarna merah. Warna merah tersebut merupakan hasil pewarnaan safranin yang masih tetap dipertahankan sel. Berdasarkan sumber panduan Bergeys menurut Brenner *et al.* (2016) menjelaskan bahwa bakteri Gram positif dan Gram negatif memiliki perbedaan. Perbedaan tersebut berdasarkan pada struktur dan komposisi selnya.

### 3.4 Karakteristik Fisiologi

Uji fisiologis merupakan tahapan lanjutan yang diperlukan untuk mengidentifikasi suatu bakteri (Yulvizar, 2013). Hasil uji fisiologis dalam penelitian ini meliputi kebutuhan oksigen, motilitas, katalase, indol dan *methyl red*. Hasil uji fisiologis (biokimia) bakteri endofit pada akar tanaman ciplukan dapat disajikan pada (Tabel 4).

Tabel 4. Hasil karakteristik fisiologi bakteri endofit akar tanaman ciplukan

| Kode Isolat | Kebutuhan Oksigen  | Motilitas | Katalase | Indol | MR |
|-------------|--------------------|-----------|----------|-------|----|
| AR1 (1)     | Fakultatif anaerob | -         | +        |       |    |
| AR1 (2)     | Aerob obligat      | +         | +        | -     | -  |
| AR2 (1)     | Aerob obligat      | +         | +        | -     | -  |
| AR3 (2)     | Fakultatif anaerob | +         | -        | -     | -  |
| AR3 (3)     | Aerob obligat      | +         | +        | -     | -  |
| AR3 (4)     | Aerob obligat      | +         | +        | -     | -  |
| KPE         |                    |           |          | +     | +  |

#### 3.4.1 Uji Kebutuhan Oksigen

Hasil uji kebutuhan oksigen bakteri endofit pada tanaman ciplukan memiliki jenis kebutuhan oksigen yang bervariasi (Tabel 4). Berdasarkan tabel, mayoritas isolat dari akar dan batang menunjukkan hasil kebutuhan oksigen berupa aerob obligat. Tiga isolat menunjukkan hasil fakultatif anaerob, yaitu AR1 (1), AR1(2), AR3 (3). Hasil aerob obligat ditandai dengan terbentuknya biomassa sel atau pertumbuhan sel bakteri terpusat di permukaan media (membentuk pelikel atau plak di permukaan). Sedangkan indikator pengamatan bagi fakultatif anaerob yaitu pertumbuhan bakteri yang menyebar rata di media, baik di bagian permukaan maupun di bagian tengah dan bawah.

Hasil uji kebutuhan oksigen yang digunakan dalam respirasi sel bervariasi di antara beberapa isolat bakteri. Hal ini, hasil yang diperoleh dari ke 6 isolat menunjukkan hasil jenis kebutuhan oksigen yang bervariasi diantaranya aerob obligat dan anaerob obligat. Menurut Jeffrey & Pommerville (2010) menyatakan bahwa bakteri fakultatif anaerob adalah kelompok bakteri yang masih bisa bertahan pada kondisi oksigen terbatas. Aerob obligat hanya bisa bertahan jika ada ketersediaan oksigen. Hal ini, adanya keragaman bakteri endofit yang berbeda di setiap jenis kebutuhan oksigennya.

#### 3.4.2 Uji Motilitas

Hasil uji motilitas pada bakteri endofit dari tanaman ciplukan diperoleh isolat motil dan 1 isolat non motil (Tabel 4). Berdasarkan hasil uji motilitas, hampir semua isolat menunjukkan hasil motil. Hal ini berarti isolat-isolat tersebut mempunyai alat gerak berupa flagel pada struktur selnya. Satu isolat memberikan hasil non motil terhadap uji motilitas, yaitu AR1 (1). Hasil motil dan non motil tersebut dikarenakan beberapa bakteri memiliki perbedaan pada tipe bentuk flagelnya. Hal ini, menurut Putri (2017) menyatakan bahwa ada beberapa macam tipe bakteri berdasarkan flagelnya, yaitu bakteri atrich (tidak mempunyai flagel), bakteri monotrich (memiliki flagel tunggal pada salah satu ujungnya), bakteri lofotrich (mempunyai seberkas flagel yang terletak pada salah satu ujungnya), bakteri amfitrik

(mempunyai masing-masing seberkas flagella atau satu flagel yang terletak pada kedua ujungnya) dan bakteri peritrich (mempunyai flagel yang terletak pada seluruh permukaan sel).

### 3.4.3 Uji Katalase

Hasil uji katalase bakteri endofit pada tanaman ciplukan diperoleh negatif dan positif katalase (Tabel 4). Berdasarkan tabel 4, hampir seluruh isolat menunjukkan hasil positif katalase. Tiga isolat menunjukkan hasil negatif katalase. Hasil positif katalase menandakan adanya muncul gelembung. Hal ini berarti isolat-isolat tersebut mempunyai enzim katalase yang berfungsi untuk melindungi selnya. Sedangkan indikator pengamatan bagi bakteri negatif katalase yaitu tidak ada munculnya gelembung. Menurut Hidayat & Alhadi (2012) menjelaskan bahwa bakteri katalase positif akan memecah  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$  dimana parameter yang menunjukkan adanya gelembung-gelembung oksigen. Pada mikroorganisme terutama bakteri,  $H_2O_2$  dapat didekomposisi oleh katalase dalam mitokondria sel.

Katalase memiliki peran penting bagi bakteri yaitu berfungsi untuk melindungi sel dari efek toksik hidrogen peroksida. Menurut Pulungan & Tumangger (2018) menjelaskan bahwa hidrogen peroksida merupakan racun yang dapat merusak sistem metabolisme bakteri. Bakteri akan mengalami kematian apabila tidak dapat memecah hidrogen peroksida menjadi senyawa lain yang tidak berbahaya, pemecahan tersebut dapat dilakukan apabila terdapat enzim katalase. Akan tetapi, pada bakteri aerob negatif katalase bukan berarti tidak dapat melindungi selnya dari efek toksik hidrogen peroksida.

Bakteri negatif katalase akan melindungi selnya dari efek toksik hidrogen peroksida menggunakan enzim secara alamiah. Menurut Panji *et al.* (2016) menyatakan bahwa enzim alamiah yang diproduksi oleh mikroorganisme (bakteri) aerob penghasil negatif katalase yaitu berupa enzim superoksida dismutase (SOD). Superoksida dismutase adalah enzim yang bertanggung jawab untuk peruraian khususnya superoksida pada bakteri aerob yang bersifat katalase negatif, diproduksi oleh bakteri yang mengkonsumsi oksigen dan berperan sebagai salah satu mekanisme pertahanan terhadap spesi oksigen reaktif yang diproduksi sebagai efek samping metabolisme dan respirasi.

### 3.4.5 Uji Indol

Hasil uji indol pada isolat tanaman ciplukan seluruhnya hasil negatif uji (Tabel 4). Berdasarkan tabel 4, hasil uji indol seluruh isolat asal akar dan batang tanaman ciplukan hasilnya negatif uji. Satu isolat memberikan hasil positif indol yaitu kontrol positif (KPE). Kontrol positif dalam penelitian ini yaitu menggunakan *Escherichia coli* dengan kode isolat KPE. Hasil positif indol pada isolat KPE menandakan bahwa bakteri mampu menghasilkan indol. Hasil positif indol tersebut ditunjukkan dengan adanya cincin berwarna merah pada bagian atas media. Sedangkan indikator pengamatan hasil negatif indol pada 6 isolat asal akar tanaman ciplukan menunjukkan adanya cincin berwarna kuning di atas permukaan media.

Indol pada bakteri endofit berperan sebagai pemacu pertumbuhan tanaman terutama pada bagian jaringan akar. Hal ini, Anggara *et al.* (2014) menjelaskan bahwa bakteri endofit penghasil hormon IAA juga bergabung dengan beberapa proses fisiologis tanaman dengan cara pemasukan hormon IAA ke dalam akar. Bakteri endofit kemudian memenuhi kebutuhan akan hormon IAA untuk melakukan pertumbuhan. Tanaman tersebut akan merespon hormon IAA sehingga membantu dalam pembentukan akar lateral dan akar adventif serta elongasi akar primer. Produksi hormon IAA oleh bakteri endofit dapat terjadi karena adanya prekursor berupa *tryptofan*. Yulvizar (2013) menjelaskan bahwa produksi indol di dalam media dimungkinkan karena adanya *tryptofan*. *Tryptofan* adalah asam amino esensial, yang teroksidasi oleh beberapa bakteri yang mengakibatkan pembentukan indol, asam piruvat dan amonia. Sedangkan hasil negatif tersebut yang menandakan bahwa keseluruhan isolat asal akar dan batang, bakteri tidak mampu untuk membentuk indol.

### 3.4.6 Uji Methyl Red (MR)

Hasil uji MR pada penelitian ini diperoleh seluruh isolat asal akar dan batang tanaman ciplukan hasilnya negatif uji (Tabel 4). Pada tabel 4, hasil negatif uji MR menunjukkan bakteri tidak mampu untuk memfermentasi asam campuran, sehingga pada media berubah warna kuning (pH basah >6). Isolat KPE merupakan kontrol dari bakteri *Escherichia coli* diperoleh hasil positif uji MR. Hasil positif menunjukkan bahwa bakteri memiliki kemampuan dalam memproduksi dan memelihara kestabilan asam dari proses akhir fermentasi glukosa. Hasil positif menunjukkan media berubah menjadi warna merah yang menandakan media dalam keadaan asam yaitu pH 4.0. Hal ini, sesuai dengan pernyataan oleh peneliti Yulvizar (2013) yang menyatakan bahwa media MR-VP akan berwarna merah setelah ditambahkan *methyl red* menunjukkan hasil positif, sedangkan jika media tetap berwarna kuning menunjukkan hasil negatif.

Pengujian MR pada bakteri endofit memiliki peran untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memproduksi dan memelihara kestabilan asam dari proses akhir fermentasi glukosa. Beberapa bakteri menghasilkan sejumlah besar asam dari fermentasi. Hal ini, menurut Campbell & Reece (2003) menjelaskan bahwa hormon IAA yang dihasilkan bakteri endofit akan menstimulasi pemompaan proton pada membran plasma yang menyebabkan peningkatan potensial membran dan penurunan pH. Penurunan pH ini menyebabkan ruang antarsel yang merupakan tempat hidup bakteri endofit menjadi asam, sehingga bakteri ini harus tahan terhadap lingkungan asam.

Berdasarkan hasil dari karakterisasi morfologi dan fisiologi yang telah dilakukan, didapatkan isolat asal akar tanaman ciplukan yang diduga memiliki kemiripan beberapa nama genus diantaranya *Corynebacterium* sp (AR1 1), *Acetobacterium* sp (AR3 2), *Serratia* sp (AR3 3), *Azotobacter* sp (AR3 4) *Phyllobacterium* sp (AR1 2) dan *Azomonas* sp (AR2 1) (Tabel 5). Akan tetapi, hasil praduga genus bakteri yang didapatkan hanya memiliki nilai presentase yang rendah. Hal ini, untuk menambah tingkat nilai presentase yang tinggi dalam penentuan praduga genus bakteri diperlukan pengujian

fisiologi (biokimia) yang lebih banyak. Pengujian fisiologi (biokimia) lainnya yang belum dilakukan berkisar antara lain: uji oksidase, nitrat, lysin, ornithin, glukosa, manitol, xylosa, urease, voges praskeur (VP), sitrat, gelatin, malonat, inositol, rhamnosa, sukrosa, laktosa, arabinosa, adonitol, raffinosa, salicin, arginin, kougulase, hemolisa, starch hidrolisis dan casein hidrolisis. Semakin banyak parameter pengujian yang dilakukan akan menambah validasi data yang lebih baik.

Tabel 5. Hasil prediksi genus bakteri endofit asal akar tanaman ciplukan

| No | Kode Isolat | Prediksi Genus            |
|----|-------------|---------------------------|
| 1. | AR1 (1)     | <i>Corynebacterium</i> sp |
| 2. | AR1 (2)     | <i>Phyllobacterium</i> sp |
| 3. | AR3 (2)     | <i>Acetobacterium</i> sp  |
| 4. | AR3 (3)     | <i>Serratia</i> sp        |
| 5. | AR3 (4)     | <i>Azotobacter</i> sp     |
| 6. | AR2 (1)     | <i>Azomonas</i> sp        |

*Corynebacterium* sp merupakan bakteri antagonis yang secara morfologis dapat dikenali dari bentuk elevasi cembung, berbentuk batang dan jenis Gram positif. Bakteri ini umumnya tidak bergerak (non motil), tetapi beberapa spesies ada yang bergerak dengan rata-rata dua bulu cambuk polar. *Corynebacterium* sp salah satu bakteri yang mampu mengendalikan hama penyakit pada tanaman. Menurut Nuryanti *et al.* (2018) dalam penelitiannya bakteri *Corynebacterium* sp dapat dimanfaatkan sebagai aplikasi biofungisida untuk pengendalian penyakit karat putih dan membantu pertumbuhan pada tanaman bunga krisan (*Chrysanthemum*). Menurut Ismail *et al.* (2011) menyatakan bahwa bakteri *Corynebacterium* sp dapat dimanfaatkan untuk pengendalian penyakit hawar daun pada tanaman padi.

*Acetobacterium* sp merupakan bakteri yang dapat ditemukan pada tanaman, makanan yang difermentasi anggur dan nata de coco. Hanudin *et al.* (2018) menyatakan bahwa *Acetobacterium* sp memiliki senyawa bioaktif yang dapat memacu pertumbuhan dan menghambat pertumbuhan patogen pada tanaman. Beberapa penelitian lain memperoleh bakteri endofit dari genus *Acetobacterium* sp. Rahmadani (2018) menyatakan bahwa dalam penelitiannya diperoleh genus *Acetobacterium* sp dari tanaman pare (*Momordica charantia* L.) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen (*Shigella flexneri*).

*Serratia* sp merupakan bakteri yang mampu membantu pertumbuhan dan mencegah penyakit pada tanaman. Nasiroh *et al.* (2015) menyatakan bahwa *Serratia* sp diketahui sebagai salah satu bakteri agens hayati yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan pengendalian organisme pengganggu tanaman yang bersifat ramah terhadap lingkungan. Samrot *et al.* (2011) menyatakan bahwa bakteri *Serratia* sp dapat memproduksi prodigiosin yang bersifat antifungi, antibakteri, antimalaria dan antikanker. Beberapa penelitian lain juga menemukan bakteri endofit dari genus *Serratia* sp. Nongkhla & Joshi (2014) menyatakan bahwa dalam penelitiannya memperoleh genus *Serratia* sp yang diambil dari hasil isolasi berbagai tanaman herbal asal hutan subtropis di daerah Meghalaya.

*Azotobacter* sp merupakan bakteri yang banyak ditemukan pada tanah dan tanaman. *Azotobacter* sp memiliki senyawa bioaktif yang dapat membantu pertumbuhan akar tanaman. Rahmi (2014) menyatakan bahwa *Azotobacter* sp merupakan bakteri yang banyak ditemukan di akar tanaman. *Azotobacter* sp berkolonisasi di akar dan memiliki manfaat untuk pertumbuhan tanaman. *Azotobacter* sp memiliki kemampuan dalam menghasilkan senyawa bioaktif berupa gliberelin, sitokinin dan asam indol asetat, sehingga dapat memacu pertumbuhan akar tanaman. Sembiring *et al.* (2013) menyatakan bahwa *Azotobacter* sp banyak dijumpai di daerah rizozfer (dalam tanah 20-8000 sel/g) pada pH tanah antara 5,9-8,4 dan bersifat aerobik.

*Phyllobacterium* sp merupakan bakteri yang mampu membantu pertumbuhan tanaman. Punjungsari *et al.* (2019) menyatakan bahwa *Phyllobacterium* sp termasuk dalam kelompok mikroorganisme PBRM (*Plant Beneficial Rizhospheric Microorganism*) yaitu mikrobial yang mampu membentuk koloni di daerah perakaran tanaman (*rizhosphere*). *Phyllobacterium* sp memiliki kemampuan dalam memfiksasi nitrogen (N) dan melarutkan kalium (K), fosfor (P) dan zinc (Zn).

*Azomonas* sp merupakan salah satu bakteri yang berasosiasi dengan tanaman. *Azomonas* sp memiliki senyawa bioaktif yang dapat memacu pertumbuhan tanaman. Kartikawati *et al.* (2017) menyatakan bahwa *Azomonas* sp meningkatkan pertumbuhan tanaman melalui mekanisme memproduksi fitohormon seperti IAA. *Azomonas* sp dikenal sebagai bakteri pelarut fosfat yaitu mampu mengubah bentuk P terfiksasi menjadi P yang lebih larut dan mudah diambil tanaman. Punjungsari *et al.* (2019) menyatakan bahwa *Azomonas* sp termasuk dalam kelompok mikroorganisme PBRM (*Plant Beneficial Rizhospheric Microorganism*).

Hasil isolat yang diperoleh menunjukkan adanya keragaman jenis dari genus bakteri endofit asal akar tanaman ciplukan. Keanekaragaman genus bakteri tersebut bahwa bakteri endofit hidup disetiap dalam jaringan tanaman inangnya memiliki jenis yang berbeda. Bhore & Sathisa (2010) menyatakan bahwa bakteri endofit pada umumnya terdiri atas beberapa genus dan spesies. Keragaman bakteri endofit dalam suatu tanaman juga dipengaruhi oleh kondisi pertumbuhan tanaman, khususnya kondisi tanah. Pada beberapa kasus, tanaman dengan jenis atau spesies yang sama memiliki bakteri endofit yang tidak selalu sama. Pada beberapa tanaman terdapat bakteri endofit yang khas dan spesifik menghuni tanaman inangnya.

#### 4. SIMPULAN

Bakteri endofit berhasil di isolasi dari akar tanaman ciplukan (*Physalis angulata* L.) diperoleh sebanyak 6 isolat. Berdasarkan hasil karakteristik morfologi dan fisiologi diperoleh 6 isolat asal akar didapatkan praduga nama genus bakteri diantaranya *Corynebacterium* sp, *Acetobacterium* sp, *Serratia* sp, *Azotobacter* sp, *Phyllobacterium* sp dan *Azomonas* sp



## 5. REFERENSI

- Aji, R.O dan Utami, B.L. (2017). Isolasi dan karakterisasi bakteri endofit dari tanaman tomat *cherry* (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) producing indole acetid acid (IAA). *Gontor AGROTECH Science Journal*, (3). 1:55-69.
- Anggara, S.B., Yuliani, Lisa, L. (2014). Isolasi dan karakterisasi bakteri endofit penghasil hormon *indole acetic acid* dari akar tanaman ubi jalar. *LenteraBio*, (3). 3: 10-16.
- Bensen, J.H. (2001). Microbiological application a laboratoy manual in general microbiology. *8 th Edition*.
- Bhore, S.J dan Sathisa. (2010). Screening of endophytic colonizing baceria of cytokinin like compounds: crude colonizing bacterial unsuitable in cucumer cotyledon bioassay. *World Journal Agricultural Science*. (6). 4: 345-352.
- Brenner, J.D., Krieg, N.R dan James, T.S. (2016). Bergeys manual of systematic bacteriology part a. *Second Edition*. USA.
- Campbell, N.A dan Reece, J.B. (2003). Biology. *Edisi Kelima*. Jakarta: Erlangga.
- Desriani, Ukhradia, M.S.P., Maria, B., Akhmad, R dan Puspita, L. (2014). Isolasi dan karakterisasi bakteri endofit dari tanaman binahong dan ketepeng china. *Jurnal Kesehatan Andalas*, (3). 2: 89-93.
- Dewi, K.A. (2013). Isolasi, identifikasi dan uji sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap amoxicillin dari sampel susu kambing peranakan ettawa (PE) penderita mastitis di wilayah girimulyo, kulon progo, yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner*, (31). 2: 138-150.
- Edhar, A.A., Widyastuti, R dan Djajakirana. (2017). Isolasi dan identifikasi mikroba tanah pendegradasi selulosa dan pektin dari rhizosfer *Aquilaria malaccensis*. *Buletin Tanah dan Lahan*, (1). 1: 58-64.
- Hadiyanti, N., Pardono dan Supriyadi. (2017). Kerapatan dan sifat morfologi ciplukan (*Physalis* sp.) di gunung kelud, jawa timur. *Jurnal Hijau Cendikia*, (2). 2:71-77.
- Hajar, D. (2012). Isolasi, identifikasi, dan analisis kemampuan degradasi hidrokarbon bakteri tanah sampel b, cilegon, banten. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Departemen Biologi. Universitas Indonesia. Depok.
- Hanudin, Budiarto, K dan Budi, M. (2018). Potensi beberapa mikroba pemacu pertumbuhan tanaman sebagai bahan aktif pupuk dan pestisida hayati. *Jurnal Litbang Pertanian*, (37). 2: 59-70.
- Hasanah, F.N., Pringgenies, D dan Wulandari, Y.S. (2012). Karakterisasi metabolit sekunder bakteri simbiosis *Gastropoda Conus miles* dengan metode gc-ms sebagai antibakteri mdr (Multi Drug Resistant). *Journal Of Marine Research*, (1). 2: 197-202.
- Hidayat, R dan Alhadi, F. (2012). Identifikasi *Streptococcus equi* dari kuda yang diduga menderita strangles. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, (17). 3: 199-203.
- Irdawati, Advinda, L dan Angraini, F. (2017). Isolation and activity test of antimicrobial endophytic bacteria from leaf salam (*Syzygum polyanthum* Wigth). *BioScience*, (1). 2: 62-69.
- Ismail, N., Luice, A., Taulu dan Bahtiar. (2011). Potensi *Corynebacterium* sebagai pengendalian penyakit hawar daun bakteri pada tanaman padi. Seminar Nasional Serealia. Hal: 459-465. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian: Sulawesi Utara.
- Jeffrey, C dan Pommerville, J.C. (2010). Microbial growth and nutrition (chapter 5). *Jones & Bartlett Learning Publisher*, Sudbury MA.
- John, G.H., Noel, R.K., Peter, H.A.S., James, T.S dan Stanley, T.W. (1994). *Bergeys Manual Trust Departement of Microbiology*. Biological Science University Of Georgia.
- Jumrah, E. (2016). Isolasi dan karakterisasi bakteri endofit potensial lengkuas merah (*Alpinia purpuruta*) dan analisis senyawa antibakterinya. *Skripsi*. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Kartikawati, A.O., Trisilawati dan Darwati, I. (2017). Pemanfaatan pupuk hayati (biofertilizer) pada tanaman rempah dan obat. *Jurnal Perspektif*, (16). 1:33-43.

- Ludwig, W., Noel, R., Krieg, James, T., Daniel, R., Brown, Brian, P., Bruce, J.P., Naomi, L., Ward dan William, B.W. (2010). Bergeys manual of determinative bacteriology. *Nith Edition*, USA.
- Nasiroh, U., Isnawati dan Guntur, T. (2015). Aktivitas antifungi *Serratia marcescens* terhadap *Alternaria porri* penyebab penyakit bercak ungu secara in vitro. *Jurnal Lentera Biologi*, (4). 1: 13-18.
- Nur, M., Hasan, J.B dan Maizar. (2016). Pertumbuhan tanaman ceplukan (*Physalis angulata* L.) pada tanah tercemar limbah bleaching earth dengan remediasi pupuk kandang. *Jurnal Dinamika Pertanian*, (32). 1:35-50.
- Nuryani, W., Silvia, E., Hanudin dan Kurniawan, B. (2018). Aplikasi biofungisida berbahan aktif *Corynebacterium* sp ramah lingkungan dalam pengendalian penyakit karat putih pada krisan. *Jurnal Teknologi Lingkungan*, (9). 1: 23-32.
- Nongkhla, W.F.M dan Joshi, S.R. (2014). Epiphytic and endophytic bacteria that promote growth of ethnomedicinal plants in the subtropical forests of meghalaya, india. *Revista Biologi Tropical*, (64).4
- Panji, T., Suharyanto dan Marini, W. (2016). Produksi, isolasi dan karakterisasi superoksida dismutase dari spirulina platensis yang dibiakkan dalam serum lateks. *E-Journal Menara Perkebunan*, (77). 1: 23-35.
- Pratiwi, S.N. (2018). Gambaran kadar vitamin c pada buah ciplukan (*Physalis angulata* L.). *Skripsi*. Program Studi Diploma III Ilmu Analis Kesehatan. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Insan Cendekia Medika. Jombang.
- Pujiyanto, S., Sunarno dan Annisa, K. (2015). Isolasi dan karakterisasi bakteri endofit penghasil inhibitor  $\alpha$ -glukosidase dari tanaman pare (*Momordica Charantia* L.). *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi*, (6): 65-71.
- Pulungan, S.A dan Tumangger, E.A. (2018). Isolasi dan karakterisasi bakteri endofit penghasil enzim katalase dari daun buas buas (*Premna Pubescens* Blume). *Jurnal Biologi Lingkungan, Industri, Kesehatan*, (5). 1: 72-80.
- Punjungsari, N.T., Wibowo, S.A dan Intan, F.A (2019). Eksplorasi konsorsium PBRM (Plant Beneficial Rhizospheric Microorganism). *Jurnal Viabel Pertanian*, (13). 2: 12-15.
- Putri, H.M., Sukini dan Yodong (2017). Mikrobiologi. *Buku*. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Rahayu, A.S dan Gumilar, H.M. (2017). Uji cemaran air minum masyarakat sekitar margahayu raya bandung dengan identifikasi bakteri Escherichia coli. *Indonesian Journal Pharmaceutical Science and Technology*, (4). 2: 50-56.
- Rahmadani, A.B. (2018). Karakterisasi bakteri endofit daun pare (*Momordica charantia* L.) yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap Shigella flexneri. *Skripsi*. Program Sarjana Pendidikan Dokter. Universitas Tanjung Pontianak.
- Rahmi. (2014). Kajian efektifitas mikroba Azotobacter sp sebagai pemacu pertumbuhan tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Galung Tropika*, (3). 2:44-53.
- Rohmah, S.N. (2017). Isolasi dan identifikasi bakteri yang berpotensi sebagai agen bioremediasi timbal (Pb) dari lumpur lapindo. *Skripsi*, Fakultas Sains dan Teknologi. Jurusan Biologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Rohmatika, D. (2016). Keanekaragaman spesies tanaman berkhasiat obat di kawasan ekowisata nglanggeran kabupaten gunung kidul provinsi daerah istimewa yogyakarta. *Skripsi*. Program Studi Bioteknologi. Universitas Islam Negeri Kali Jaga. Yogyakarta.
- Salgado, E.R dan Arana, V.G. (2013). *Physalis angulata* L. (*Bolsa Mullaca*): A review of its traditional uses, chemistry and pharmacology. *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat*, (12). 5: 431-445.
- Samrot, A.V., Chandana, K., Senthilkumar, P., Kumar, N. (2011). Optimization of prodigiosin production by *Serratia marcescens* SU-10 and evaluation of its bioactivity. *International Research Journal Of Biotechnology*, (2). 5: 128-133.
- Sardiani, N., Magdalena, L., Risco, G.B., Dody, P., Syahribulan dan Zaraswati, D. (2015). Potensi Tunikata Rhopalaea sp sebagai sumber inokulum bakteri endosimbion penghasil antibakteri: 1 karakterisasi isolat. *Jurnal Alam dan Lingkungan*, (6). 11: 1-10.
- Sembiring, V.R.Y., Nugroho, A.P dan Istianto. (2013). Kajian penggunaan mikroorganisme tanah untuk meningkatkan efisiensi pemupukan pada tanaman karet. *Warta Perkaretan*, (32). 1: 7-15.

- Susilowati, D.N., Hendra, G., Erny, Y., Mamik, S dan Ika R. (2018). Karakterisasi bakteri endofit tanaman purwoceng sebagai penghasil senyawa steroid dan antipatogen. *Jurnal Littr*, (24). 1: 1-10.
- Ulfa, A., Suarsini, E dan Muhdhar, A.I.H.M. (2016). Isolasi dan uji sensitivitas merkuri pada bakteri dari limbah penambangan emas di sekotong barat kabupaten lombok barat: penelitian pendahuluan. *Proceeding Biology Education Conference*, (13). 1: 793-799.
- Wilson, W., Yekti, A.P dan Langkah, S. (2017). Isolasi, karakterisasi dan skrinning antimikrobia bakteri aendofit tanaman purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molk). *Jurnal Labora Medika*, (1). 1: 1-6.
- Wiratno, Muhammad, S., Irwanto, S dan Askardiansyah, P.P. (2019). Isolation and characterization of endophytic bacteria from roots of *Piper nigrum* and their activities againts *Fusarium oxysorum* and *Melodogyne incognita*. *Biodiversitas*, (20). 3: 682-687.
- Yulianti, T. (2012). Menggali potensi endofit untuk meningkatkan kesehatan tanaman tebu mendukung peningkatan produksi gula. *Perspektif*, (11). 2: 111-122.
- Yulvizar, C. (2013). Isolasi dan identifikasi bakteri probiotik pada *Raastrelliger* sp. *Biospecies*, (6). 2: 1-7.
- Yusmaniar, Wardiah dan Nida, K. (2017). Mikrobiologi dan parasitologi. *Bahan ajar Farmasi*. Kementrian Kesehatan Indonesia.

